

# UN ESCENARIO PARA EL USO DE MICROORGANISMOS DEL MANGLAR COMO INOCULANTES MICROBIANOS EN COLOMBIA

## USE OF MANGROVE MICROORGANISMS AS MICROBIAL INOCULANTS IN COLOMBIA

*Nelson O. Valero\**, *Beatriz Barraza\*\**, *Ana M. Medina\*\*\**

### RESUMEN

En este trabajo se realizó la revisión bibliográfica existente sobre la importancia de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal que podrían ser utilizados como inoculantes microbianos en plántulas de mangle. Inicialmente se presenta la problemática de los manglares en Colombia y la función ecológica de los microorganismos en este ecosistema. El trabajo hace énfasis en los estudios realizados acerca de microorganismos solubilizadores de fosfatos y fijadores de nitrógeno tanto rizosféricos como endófitos; resaltando su uso potencial en procesos de conservación y restauración en áreas degradadas. En este trabajo concluimos que la comunidad bacteriana y la fúngica son las responsables del sostenimiento de los ecosistemas de manglar, constituyendo un eficiente sistema de reciclaje de nutrientes y que además pueden servir como coadyuvantes para la propagación y establecimiento de las plántulas.

**Palabras clave:** Biofertilizantes, Endófitos, Manglar, Bacterias, Hongos.

### ABSTRACT

In this paper, the review of the literature about the importance of plant growth promoting microorganisms that could be used as microbial inoculants on mangrove seedlings. Initially we present the problem of mangroves in Colombia and ecological role of microorganisms in this ecosystem. This paper emphasizes on the studies about phosphates solubilizing microorganisms and nitrogen-fixing both rhizospheric and endophytic, highlighting their potential use in conservation and restoration processes in degraded areas. In this study, we concluded that the bacterial and fungal community are responsible for the maintenance of mangrove ecosystems, constituting an efficient recycling of nutrients and they can also serve as aids for the propagation and establishment of seedlings.

**Keywords:** Biofertilizers, Endophytes, Mangroves, Bacteria, Fungi.

**Recibido:** Octubre 8 de 2010

**Aceptado:** Marzo 16 de 2011

---

\* Biólogo, MSc. Microbiología. Departamento de Microbiología, Universidad Popular del Cesar, Valledupar, Colombia. valeronelson@gmail.com

\*\* Biólogo, MSc. Microbiología. Programa de Microbiología, Universidad Libre Seccional Barranquilla.

\*\*\* Bacterióloga, MSc. Microbiología Industrial. Centro de Investigaciones Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Libre Seccional Barranquilla.

## INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas de manglar cubren el 60-75% de las costas tropicales y subtropicales del mundo, recientemente se ha reportado la desaparición de un 25% de las áreas de manglar, causando graves impactos ambientales, sociales y económicos a las comunidades locales y usuarios de estos ecosistemas. En América Latina ocupan aproximadamente 4.000.000 ha, en las costas del Pacífico y del Atlántico; en Colombia cubren aproximadamente 380.000 ha entre ambas costas, de las cuales 292.726 se encuentran en el litoral Pacífico y 87.908 en el Caribe.

Actualmente la situación de los ecosistemas de manglar en Colombia y en especial en la región Caribe es crítica. Se calcula que unas 40.000 hectáreas han sido alteradas en los últimos 30 años por actividades como la construcción de carreteras, muelles, infraestructura turística y algunas obras inadecuadas en la producción de camarones, expansión de las fronteras urbanas, agrícolas e industriales, contaminación por hidrocarburos, plásticos y tala indiscriminada del bosque de mangle.

La ciénaga de Mallorquín localizada en el Caribe colombiano, por la falta de planeamiento territorial y ambiental se ha visto afectada por el vertimiento de grandes toneladas de escombros y material de relleno que ha llevado a la destrucción de numerosas hectáreas de manglar (1).

Lo anterior, ha generado graves alteraciones en las funciones ecológicas del manglar tales como refugio, alimentación y anidación de diversas especies amenazadas como mamíferos, reptiles, anfibios y aves; estabilización de playas, control de la erosión y evotranspiración, detoxificadores, amortiguación de inundaciones y atenuación del calentamiento global (2).

Ante esta problemática, se han venido promoviendo y desarrollando programas de repoblamiento, recolectando plántulas y trasplantándolas tras un periodo de enraizamiento de dos a cuatro meses en vivero; sin embargo esta estrategia presenta algunos inconvenientes como el lento crecimiento, difícil adaptación a las condiciones naturales, baja sobrevivencia y problemas fitosanitarios. Estudios previos han explicado la importancia de la población microbiana presente en los sedimentos de los ecosistemas de manglar, de la cual depende en gran medida la nutrición de las plantas de mangle, principalmente por la liberación de nutrientes tras la acción de organismos descomponedores de hojarasca y detritus, y el ciclaje de elementos limitantes como el nitrógeno y el fósforo; así se ha considerado que la fijación biológica de  $N_2$  en algunos casos puede proveer hasta un 40-60% de los requerimientos de los mangles (3). La solubilización de compuestos complejos de fósforo (como los fosfatos de calcio, hierro y aluminio) realizada por ciertas especies de bacterias y hongos contribuye a la regeneración de nutrientes en el ecosistema del manglar, porque los hace disponibles para las plantas y para otros microorganismos allí presentes.

Además de estas funciones, recientemente se ha documentado el papel fundamental de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal asociados a la rizósfera del manglar, como los responsables de la sobrevivencia y adaptación de las plantas, a las condiciones estresantes de los sedimentos estuarinos en donde se desarrollan, debido a la interacción que se da por la liberación de exudados ricos en azúcares y vitaminas por parte de las raíces de las plantas, sustancias favorables para el establecimiento de comunidades microbianas sobre la superficie de la raíz (4), las cuales a su vez favorecen a la planta mediante la acción combina-

da de mecanismos como la biofertilización, fitoestimulación y control de fitopatógenos (5). Este hecho conduce a considerar el aprovechamiento de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal como parte de la estrategia de propagación y repoblamiento del manglar, de tal manera que la sobrevivencia en campo de plantas propagadas en vivero resulta mejor cuando estas han sido inoculadas con poblaciones microbianas benéficas, que cuando son plantadas sin haber sido preadaptadas con su flora acompañante. El presente trabajo tiene como objetivo revisar los conocimientos disponibles sobre el uso de microorganismos promotores de crecimiento vegetal que podrían ser utilizados como inoculantes microbianos en plántulas de mangle.

#### **Avances sobre el uso de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en mangle**

En diferentes estudios realizados en países como México, Estados Unidos, Brasil, entre otros, se ha demostrado que el uso e introducción de bacterias y hongos promotores de crecimiento vegetal (BPCV) puede aumentar el desarrollo de plántulas de mangle e incluso crear manglares artificiales en tierras húmedas. Se han realizado inóculos para manglar con cianobacterias como *Microcystis chthonoplastes* y BPCV como *Azospirillum sp* (6). Además, otros estudios revelan una densa población de *Azospirillum brasilense* y *A. halopraeferans* colonizando las raíces de *A. germinans* a cuatro días de la inoculación (7).

Holguín (8) reporta el aislamiento de diferentes bacterias solubilizadoras de fósforo a partir de *A. germinans* como *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. taylorae*, *E. asbururiae* y *Kluyvera cryocrescens* y dos especies de bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSP)

en raíces de mangle blanco *Chryseomonas luteola* y *Pseudomonas stutzeri*.

El inóculo con la mezcla de *Phyllobacterium sp* (diazótrofo) y *Bacillus licheniformis* aislados de la rizósfera de mangle aumentó la fijación de N por parte de *Phyllobacterium sp* de 160 mmol/colonia a 470 mmol/colonia. La coinoculación de plántulas de mangle con estas dos bacterias incrementó la incorporación de N en las hojas, de 1,700 a 3,200 de N<sup>15</sup> (9).

La inoculación con varias bacterias de la rizósfera de manglar a semillas de *Salicornia bigelovii* (planta halófila de pantanos salados del norte de América) aumentó su crecimiento de un 44-102% en peso seco, en un 500% sus contenidos de N y proteínas, y en un 94% el contenido de ácidos grasos. Estas bacterias incluyen a *Vibrio aestuarius* (diazótrofo) con la bacteria solubilizadora de fosfato (BSF) *V. proteolyticus* y a *Phyllobacterium myrsinacearum* (diazótrofo) con BSF *B. licheniformis* (10).

Dentro de las estrategias estudiadas para mejorar la propagación y crecimiento del mangle, Kathiresan y Ravikumar (11) concluyeron que el acodo aéreo y los tratamientos hormonales con ácido indolacético y ácido indolbutírico pueden ser aplicados en la propagación vegetativa del mangle. Sin embargo, el uso de estas fitohormonas es costosa y en vez de emplearla directamente, podría suplirse indirectamente por la aplicación de microorganismos que las pueden producir por metabolismo secundario.

En Colombia, una de las estrategias que se han estudiado para la reforestación de manglares ha sido la aplicación exógena de poliaminas estimulando el crecimiento vegetal y disminuyendo la fase de crecimiento lento en plántulas de *R. mangle*. La aplica-

ción de putrescina y espermina activó el crecimiento de las plántulas de mangle e indujo cambios favorables en diferentes parámetros de desarrollo (12), sin embargo los resultados no son contundentes y esta estrategia también resulta costosa.

González *et al.* (13) utilizaron el acodo aéreo como técnica para la repoblación con mangle rojo logrando supervivencias del 64,4% y enraizamiento 80,2% de los casos. No obstante la supervivencia de las plántulas fue nula al cabo de 40 días de efectuado el trasplante.

Otros estudios llevados a cabo en el país se han basado en la aplicación de microorganismos aislados de rizósfera de manglar, con actividad fijadora de nitrógeno (*Aquaspirillum vinelandii*) y solubilizadora de fosfatos (*Penicillium sp.*) comprobada previamente *in vitro* (14) sobre el crecimiento de plántulas de mangle (*A. germinans* y *R. mangle*) y patilla (*Citrullus vulgaris*), en dicho estudio se observó que la utilización de estas cepas causan un efecto positivo de estimulación de crecimiento en las plantas tratadas con dichos inoculantes, motivo por el cual los autores relacionan los resultados obtenidos con el potencial biotecnológico de los inoculantes en procesos de restauración, reforestación y uso como biofertilizantes. La solubilización de compuestos complejos de fósforo (como los fosfatos de calcio, hierro y aluminio) realizada por ciertas especies de bacterias y hongos contribuye a la regeneración de nutrientes en el ecosistema del manglar, porque los hace disponibles para las plantas y para otros microorganismos allí presentes.

La actividad solubilizadora de aislamientos fúngicos procedentes del manglar ha sido detectada en cepas como *Aspergillus candidus*, a las cuales se les ha evaluado la presencia de exoenzimas hidrolíticas

producidas *in vitro* para solubilizar fosfato de calcio. En los bosques de manglar de América los informes sobre dicha actividad son escasos, Vásquez, *et al.* (15), realizaron aislamientos a partir de la rizósfera de *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa* y, aunque la mayoría de los aislamientos obtenidos con alguna capacidad para solubilizar fosfatos fueron de bacterias, también encontraron una cepa del hongo deuteromycete *Aspergillus niger*, que es una especie terrestre con reconocida capacidad de solubilizar fosfatos. La cepa aislada presentó niveles de solubilización similares a los registrados para los aislamientos en ecosistemas terrestres, que fueron mayores a los de cualquiera de las especies bacterianas obtenidas.

#### **Potencial de microorganismos endófitos para el crecimiento y desarrollo de plantas de mangle**

El término endófito se refiere a los hongos y bacterias que durante todo o parte de su ciclo de vida viven sin causar daño en el interior de células o tejidos de plantas superiores (16); esto excluye las asociaciones micorrícicas e incluye hongos con fases latentes antes del periodo de infección y hongos que son patógenos conocidos pero que no expresan síntomas en el tejido.

Los microorganismos endófitos suelen vivir en los espacios intercelulares y, algunas veces, intracelularmente en hojas, tallos y flores, absorbiendo nutrientes de la planta. En algunos casos, estos confieren beneficios que pueden resultar mutuos: utilizan los nutrientes que sintetiza la planta y esta se beneficia de los metabolitos bioactivos que ellos producen, actividad que promete adelantos en el área biotecnológica y en sistemas agrícolas. En gramíneas se ha demostrado que brindan resistencia a herbívoros mediante la producción de metabolitos secundarios que resultan tóxicos o reducen la pa-

latabilidad para los organismos que las consumen (insectos, mamíferos).

La diversidad y número de microorganismos en la rizósfera es muy grande, lo cual ocasiona que en este ambiente exista una fuerte competencia por los nutrientes y en consecuencia que su disponibilidad sea limitada. Sobre esta base se ha considerado que los microorganismos endófitos podrían tener algunas ventajas competitivas sobre los rizosféricos, ya que la disponibilidad de nutrientes es mayor en el interior de las plantas y el número de microorganismos endófitos es menor que el de los rizosféricos (17). Por otro lado, los microorganismos endófitos se encuentran mejor protegidos que los rizosféricos de las condiciones adversas que se presentan en el medio ambiente (18). Considerando que los microorganismos endófitos se ubican en contacto íntimo con las plantas, ellas podrían brindar beneficios más directos a su hospedero en comparación con los rizosféricos. Por ejemplo, podrían excretar fitohormonas en el interior de las plantas y/o protegerlas contra la acción de los fitopatógenos. La protección podría ser a través de efectos antagónicos, debido a la producción de sustancias que inhiben el crecimiento de los patógenos (19) o bien, por el desencadenamiento de una respuesta de defensa de la planta en contra de patógenos inducida por el endófito, en forma similar a la que se observa con algunas rizobacterias (20). Por otro lado, se ha sugerido que el interior de las plantas es un ambiente propicio para que se lleve a cabo la fijación biológica de nitrógeno (FBN), ya que este ambiente es bajo en oxígeno y relativamente alto en fuentes de carbono, por lo que las bacterias diazótroficas endófitas podrían fijar el nitrógeno y liberarlo directamente en el interior de las plantas contribuyendo con una parte de los requerimientos nitrogenados de la planta hospedera (21).

Se ha estudiado la utilización de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno, como biofertilizantes en especies de interés agrícola como arroz, caña de azúcar, café, maíz y pasturas, entre otras, encontrando resultados promisorios y alta competitividad frente a productos inoculantes de acción restringida en la rizósfera, entre las bacterias más estudiadas se encuentran *Gluconacetobacter diazotróphicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, y diferentes especies de los géneros *Azospirillum* y *Pseudomonas*. Sin embargo este tipo de asociación no ha sido estudiado en plantas de tipo arbóreo. Para el caso específico del manglar el estudio y aprovechamiento de las bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal resulta ser una herramienta promisoriosa que puede contribuir a la mejor propagación, adaptación y sobrevivencia de las plántulas de mangle en áreas de repoblamiento.

Muchos grupos de investigación han señalado que los cultivos mixtos o la combinación de diferentes grupos bacterianos que crecen juntos en un solo cultivo, crean condiciones propicias para que las bacterias interactúen sinérgicamente y se estimulen unas a otras a través de actividades bioquímicas o físicas que promuevan algunos aspectos benéficos de su fisiología. En la bibliografía existen numerosos ejemplos sobre las ventajas de las asociaciones bacterianas o cultivos mixtos sobre los cultivos puros (22).

## CONCLUSIONES

Los manglares son un importante recurso natural que debe protegerse. El detritus generado por el mangle es la base de una cadena trófica extensa que sostiene a organismos de importancia ecológica y comercial, los cuales pueden ser utilizados en procesos de reforestación y recuperación de estos

ecosistemas naturales cada vez más amenazados por la actividad antrópica.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Villamil C, Espinosa S. Estado del conocimiento de los manglares. INVEMAR. Informe del Estado de los Ambientes y Recursos Marinos y Costeros en Colombia. 2007; 8:75-102.
2. Sánchez H, Ulloa-Delgado, Álvarez R, Gil W, Sánchez A, Guevara O, et al. Hacia la recuperación de los manglares del Caribe colombiano. Proyecto PD/171/91 Rev 2 (F) fase II. Etapa II. MinAmbiente, Acofore, OIMT. Santa Fe de Bogotá. 2000:294.
3. Zuberer D, Silver WS. Biological dinitrogen fixation (Acetylene reduction) associated with Florida mangroves. *Applied and environmental Microbiology*. 1978; 35:567-75.
4. Holguín G, Bashan Y, Mendoza RA, Amador E, Toledo G, Vázquez P, et al. La Microbiología de los manglares. Bosques en la frontera entre el mar y la tierra. *Ciencia y Desarrollo*. 1999; 144:26-35.
5. Bashan Y. Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for aride mangrove reforestation. *Tree*. 2002; 16:159-66.
6. Bashan Y, Holguin, G. Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. *Trees*. 2002; 16:159-66.
7. Puente M, Holguín G, Glick B, Bashan Y. Root-surface colonization of black mangrove seedlings by *Azospirillum halopraferens* and *Azospirillum brasilense* in seawater. *FEMS Microbial Ecology* 1999; 29:283-92.
8. Holguín G, Vázquez P, Bashan Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biol. Fertil. Soils*. 2001.
9. Holguín G. Improving the plant growth promoting ability of *Azospirillum brasilense* by genetic manipulation. Tesis de Doctorado, Universidad de Waterloo, Ontario, Canada. 2001.
10. Bashan Y, Moreno M, Troyo E. Growth promotion of the seawater-irrigated oilseed halophyte *Salicornia bigelovii* inoculated with mangrove rhizosphere bacteria and halotolerant *Azospirillum spp.* *Bio Fertil Soil*. 2000; 32:265-72.
11. Kathiresan K, Ravikumar S. Vegetative propagation through air-layering in two species of mangroves. *Aquatic Botanic*. 1995; 50:107-10.
12. Mendoza C. Acción de las poliamidas sobre el crecimiento en plántulas de *Rizophora mangle*. Trabajo de grado Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 2000.
13. González D, Rivas B, Alvarado E, Polanía J. El acodo aéreo como técnica para repoblar mangle rojo. *Boletín Ecotrópica*. 1995; 28:1-15.
14. Vanegas J. Determinación de la Actividad Fijadora de Nitrógeno de Diazótrofos Asociados a Plántulas de *Rhizophora mangle* y *Avicennia germinans* en Manglares del Caribe Colombiano. Santa Fe de Bogotá. Trabajo de Grado (Biólogo). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. 2004:74.
15. Vázquez P, Holguín G, Puente M, López A, Bashan Y. Phosphate-Solubilizing microorganism associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biol Fertil Soil*. 2000; 30:460-8.
16. Wilson D. Endophyte: the Evolution of a Term, and Clarification of its Use and Definition. *Oikos*. 1995; 73:274-6.
17. James E K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. In: *Field Crops Research*. 2000; 65:197-209.
18. Reinhold HB, Hurek T. Life in grasses: diazotrophic endophytes. In: *Trends Microbiology*. 1998; 6: 139-44.

19. Muthukumarasamy R, Rebathi G, Vadivelu M. Antagonistic potential of N<sub>2</sub>-fixing *Acetobacter diazotrophicus* against *Colletotrichum falcatum* Went., a causal of red-rot of sugarcane. *Curr. Sci.* 2000; 78:1063-5.
20. Pieterse C. Salicylic acid-independent plant defense pathways. *Trends Plant Science.* 1999; 4:52-8.
21. Boddey R, De Oliveira O, Urquiaga S, Reis V, Baldani V. and Döbereiner J. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: Contributions and prospects for improvement. *Plan Soil.* 1995; 17:195-209.
22. Bashan Y, Holguin G. la importancia de los manglares y su microbiología para el sostenimiento de las pesquerías costeras. *Microbiología agrícola.* 2007; 10:239-53.